DATA SHEET

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B

인플루엔자 바이러스 연구 및 공중 보건 감시를 위한 간소화된 라이브러리 준비 솔루션

- A형 및 B형 인플루엔자 바이러스 균주에 대한 신속하고 편향되지 않은 전장 유전체 커버리지 제공
- 샘플 종류와 바이러스 수치가 다양한 RNA의 사용 지원
- 전장 유전체 분석 및 변이 해석 절차 간소화

illumina®

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

문서 번호: M-KR-00205 KOR
원본 문서: M-GL-01898 v1.0

소개

A형 및 B형 인플루엔자 바이러스 균주는 계절성, 범유행성 및 인수공통 호흡기 질환을 일으켜 전 세계적으로 사람과 동물의 건강을 위협할 수 있습니다. COVID-19 팬데믹을 통해 차세대 시퀀싱(next-generation sequencing, NGS)을 기반으로 한 병원체 유전체 감시의 유용성이 확인되었으며, 연구자들은 새로운 변이를 추적하고 공중 보건 대응 지침을 제공할 수 있게 되었습니다. 비슷한 앰플리콘(amplicon) 기반의 접근 방식이 인플루엔자 바이러스의 시퀀싱과 특성 확인에 활용된 바 있습니다.[1,2] 그런데 인플루엔자 바이러스는 유전체 변동성(genomic variability)이 커 정확한 시퀀싱이 어렵고, 현재 제공되는 대부분의 시퀀싱 프로토콜은 간소화되어 있지 않아 변동이 심한 시퀀싱 결과가 도출될 수 있습니다.

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트는 입증된 Illumina COVIDSeq™ Assay를 기반으로 하며, 인플루엔자 바이러스의 정확하고 신속하며 편향 없는 시퀀싱 및 특성 확인에 이용할 수 있습니다. 사용이 용이한 DRAGEN™ Targeted Microbial App과의 통합은 데이터 분석 절차를 간소화하여 바이오인포매틱스(bioinformatics, 생명정보학) 전문 지식이 없는 랩에서도 변이를 식별하고 바이러스 아형 분류(viral subtyping)를 수행할 수 있습니다. 확장 가능한 통합 워크플로우(그림 1)의 한 구성 요소인 Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트는 공중 보건 연구자들이 지역 주민의 건강을 지키기 위해 유전체 감시 노력을 강화할 수 있도록 해 줍니다.

간소화된 워크플로우

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B는 신속하고 편향되지 않은 인플루엔자 바이러스의 시퀀싱 및 특성 확인을 위해 고도로 다중화(highly multiplexed)된 RT-PCR 기반의 라이브러리 준비 솔루션입니다(표 1). 강력한 Illumina COVIDSeq Assay 워크플로우를 기반으로 하는 이 키트는 인플루엔자 바이러스 균주의 검출 및 특성 확인에 필요한 유전 물질(genetic material)의 분리부터 시퀀싱과 데이터 분석까지 모든 단계를 아우릅니다(그림 1).

라이브러리 준비

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트에는 RNA 역전사(reverse transcription), PCR 증폭(amplification) 그리고 앰플리콘 태그멘테이션(tagmentation)을 위한 비드 결합 트랜스포좀(bead-linked transposome, BLT)에 사용되는 시약이 들어 있고, 전장 유전체(whole-genome) 앰플리콘으로 시퀀싱 라이브러리 생성 시 사용되는 인덱싱된 어댑터가 포함되어 있습니다(그림 2). 이 키트에는 상용 키트로 추출한 RNA를 사용할 수 있습니다.

표 1: 총 소요 시간 및 수작업 시간

샘플 개수	총 소요 시간	수작업 시간
8개	8시간	1.9시간
48개	9.3시간	3.2시간

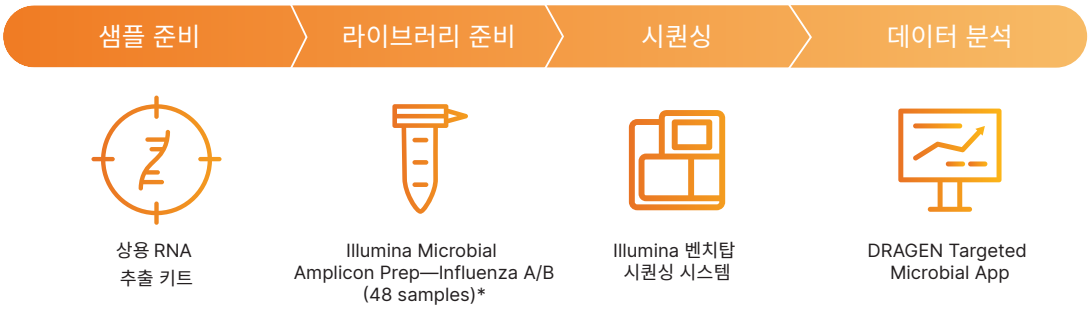

그림 1: Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 워크플로우 — 간소화된 워크플로우를 통해 Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트로 준비한 인플루엔자 바이러스 라이브러리를 Illumina 벤치탑 시퀀싱 시스템에서 시퀀싱한 후 바이러스 검출, 변이 검출 및 균주 형별 분류(strain typing)를 위해 DRAGEN Targeted Microbial App으로 데이터를 분석함. *키트에는 보편적인 A/B형 인플루엔자 바이러스 프라이머 풀, RT-PCR 시약, 고유한 듀얼 인덱스(unique dual index, UDI)를 비롯한 라이브러리 준비에 필요한 모든 시약이 포함되어 있으며, RNA 추출 시약은 포함되어 있지 않음.

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

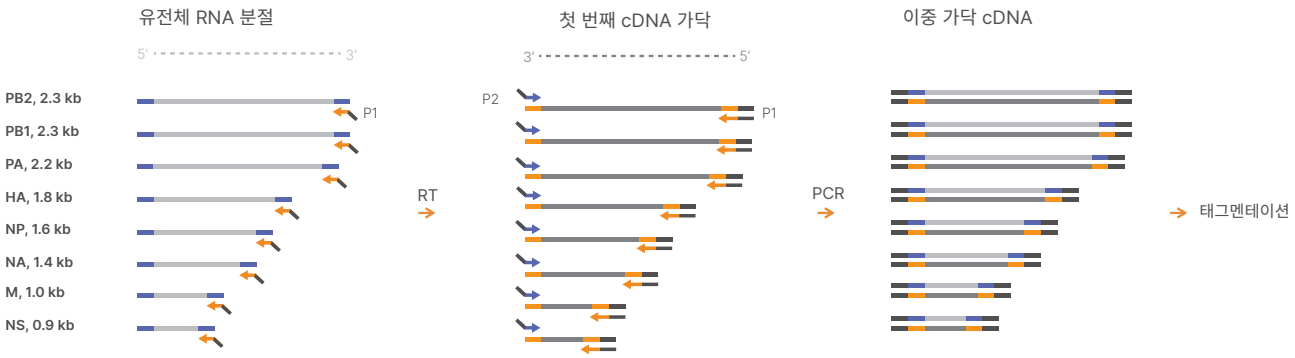

그림 2: 태그멘테이션이 가능한 앰플리콘 생성에 사용되는 보편적인 A/B형 인플루엔자 바이러스의 전장 유전체 RT-PCR 접근 방식 — A/B형 인플루엔자 프라이머 풀에는 첫 번째 및 두 번째 상보적 DNA(complementary DNA, cDNA) 가닥의 3' 말단에 하이브리드화(hybridization)되도록 설계된 16개의 프라이머가 들어 있어, 각 유전체 RNA 분절의 전장 cDNA 합성(synthesis) 및 뒤이은 PCR 증폭을 모두 지원함. 파란색 및 주황색 선은 유전체 RNA 분절의 보존된 비코딩 영역(conserved noncoding region)을, 검은색 선은 보편적인 프라이머로 추가한 DNA 시퀀스를 나타냄. 연회색 선은 유전체 RNA 또는 두 번째 cDNA 가닥을, 진회색 선은 첫 번째 cDNA 가닥을 나타냄.

시퀀싱

이렇게 준비한 라이브러리는 모든 Illumina 시퀀싱 시스템에서 시퀀싱할 수 있지만, 48개의 샘플 구성을 지원하는 Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B는 iSeq™ 100, MiniSeq™, MiSeq™, NextSeq™ 500, NextSeq 550, NextSeq 1000 및 NextSeq 2000 시스템과 같은 벤치탑 플랫폼에서 시퀀싱하는 것이 적합합니다.

데이터 분석

Illumina DRAGEN Targeted Microbial App은 BaseSpace™ Sequence Hub에서 무료로 이용할 수 있습니다. 이 사용이 용이한 앱은 참조 유전체(reference genome)에 리드(read)를 정렬(alignment)하고, 변이를 검출하며 샘플 내 핵산 종(species)의 모집단을 나타내는 공통 유전체 시퀀스(consensus genome sequence)를 생성합니다(그림 3). 가능한 경우, 추가적인 계통(lineage) 분석을 위해 큐레이션(curation)을 거친 외부 데이터베이스에 접속합니다.

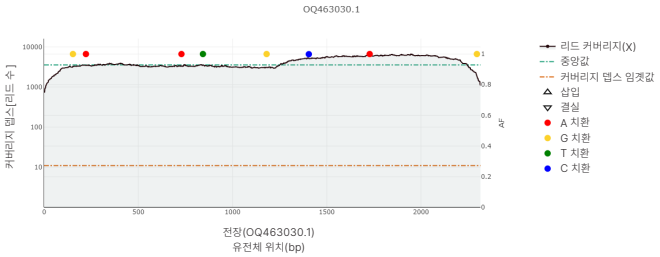

그림 3: DRAGEN Targeted Microbial App으로 만든 A형 인플루엔자 바이러스의 커버리지 플롯 — DRAGEN Targeted Microbial App이 생성한 커버리지(coverage) 플롯은 상호 작용이 가능하여 연구자가 로그 스케일(log-scale) 간에 토글을 하고, 커버리지 선 중앙값 및/또는 치환(substitution)/결실(deletion) 정보를 제외하거나 포함할 수 있는 기능을 제공함. A/B형 인플루엔자 바이러스와 같은 분절화된 바이러스의 경우, 각 분절은 별도의 커버리지 플롯으로 표현됨. 각각의 동그라미는 참조 유전체와 다른 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)을 나타내며, 치환(염기 A, G, T 또는 C)은 네 가지 색상으로 구분되고, 삽입/결실(insertion/deletion, Indel)은 삼각형으로 표시됨. 상기 예시와 같이 상호 작용 플롯은 PNG 파일로 다운로드 가능함.

A/B형 인플루엔자 바이러스 유전체에 대한 우수한 커버리지

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B는 A형 및 B형 인플루엔자 바이러스 유전체에 대한 폭넓은 시퀀스 커버리지를 제공하도록 설계되었습니다. 이 키트에는 분산이 매우 큰 유전자(highly variable gene)인 뉴라미니다아제(neuraminidase, NA)와 헤마글루티닌(hemagglutinin, HA)을 비롯한 A형 및 B형 인플루엔자 바이러스 균주에 대해 98%가 넘는 커버리지를 제공하며 시험을 통해 그 성능이 입증된 16개의 보편적인 프라이머[3,4]가 포함되어 있습니다(그림 4, 그림 5).[5]

유연한 Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트에는 일반적인 추출 프로토콜을 변경할 필요 없이 그대로 적용해 분리한 RNA 샘플을 사용할 수 있습니다. 비강 도말(Nasal swab) 샘플과 같이 임상 연구에 사용되는 샘플은 샘플마다 그 품질과 바이러스 수치(viral load)가 상이할 수 있습니다. Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트는 바이러스 분리주(isolate)의 경우 Ct 값이 21.2~31.1로 측정(즉, 높은 바이러스 역가(titer)에서 낮은 바이러스 역가까지)되어 일관적으로 우수한 성능을 보입니다. 최적의 결과를 위해서는 Ct 값이 30 미만인 샘플이 권장됩니다.

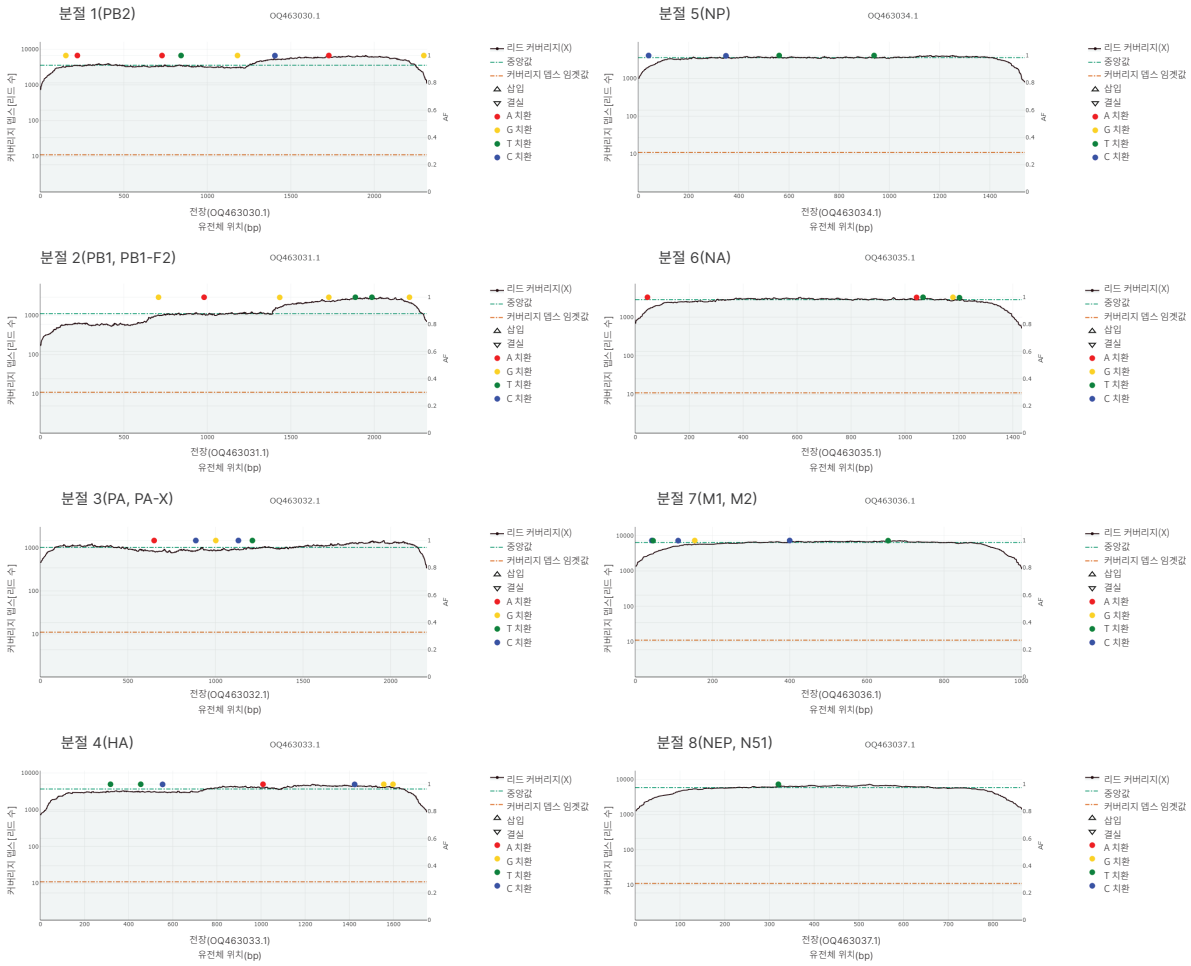

그림 4: A형 인플루엔자 바이러스 연구용 샘플의 유전체 커버리지 플롯 — A형 인플루엔자 바이러스의 분절 8개 전체에 걸친 전장 유전체 커버리지를 보여주는 비인두 도말(nasopharyngeal swab) H1N1 바이러스 샘플(Ct 값 = 21.2; 바이러스 RNA 카피(copy) 수 = 약 482개)의 대표적인 커버리지 플롯으로, 각각의 그래프는 A형 인플루엔자 바이러스 유전체의 분절별 커버리지를 나타냄. 참조 유전체의 등록(accession) ID는 각 그래프 상단에 표기되어 있음. 점선은 커버리지 뎁스(depth) 중앙값을 나타냄. 데이터는 1M 개의 페어드 엔드 리드(paired-end read, 2 × 149 bp)를 사용해 DRAGEN Targeted Microbial App으로 분석됨.

연구 전용입니다. 진단 절차에는 사용할 수 없습니다.

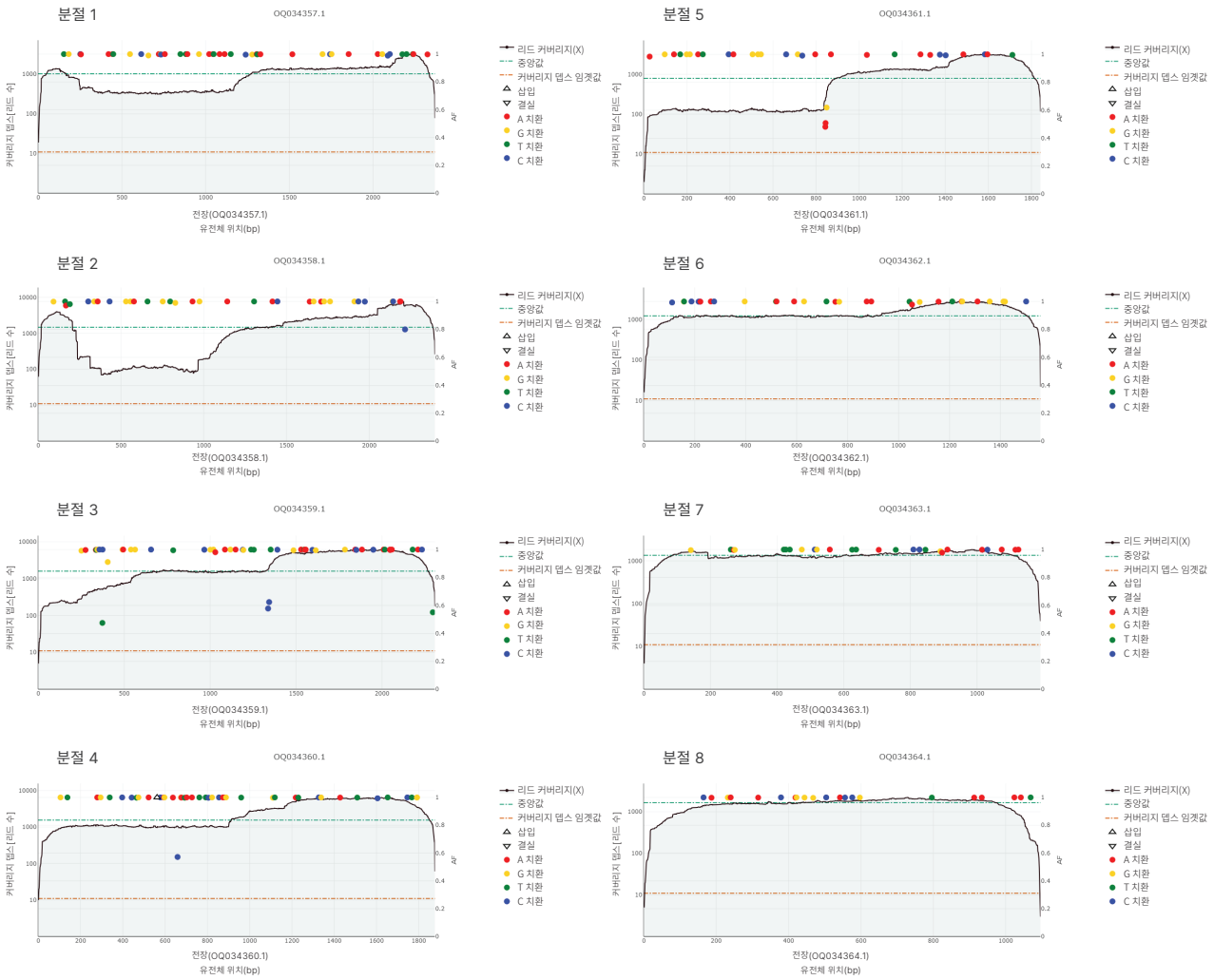

그림 5: B형 인플루엔자 바이러스 연구용 샘플의 유전체 커버리지 플롯 — B형 인플루엔자 바이러스의 분절 8개 전체에 걸친 전장 유전체 커버리지를 보여주는 B형 인플루엔자 바이러스 샘플(ATCC VR-1735, Ct 값 = 22.1; 바이러스 RNA 카피 수 = 약 85,000개)의 대표적인 커버리지 플롯으로, 각각의 그래프는 B형 인플루엔자 바이러스 유전체의 분절별 커버리지를 나타냄. 참조 유전체의 등록 ID는 각 그래프의 상단에 표기되어 있음. 점선은 커버리지 댑스 중앙값을 나타냄. 데이터는 1M 개의 페어드 엔드 리드(2 x 149 bp)를 사용해 DRAGEN Targeted Microbial App으로 분석됨.

요약

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B 키트는 공중 보건 연구자들이 지역 주민의 건강을 지킬 수 있도록 인플루엔자 바이러스의 특성 확인과 감시에 유용한 간소화된 솔루션을 제공합니다. 이 유연한 assay는 바이러스 수치가 다양한 배양체(culture)나 비강 도말 및 세척액(wash)에서 추출한 RNA의 사용을 지원합니다. 혁신적인 NGS 플랫폼과의 통합 시 효과적인 공중 보건 감시에 요구되는 우수한 데이터 품질, 유연성 및 확장성을 제공하고 영향력 있는 인플루엔자 바이러스 연구를 수행할 수 있을 것입니다.

상세 정보

Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B

미생물 유전체 연구

제품 목록

제품	카탈로그 번호
Illumina Microbial Amplicon Prep—Influenza A/B (48 samples)	20106305

참고 문헌

1. Lee HK, Lee CK, Tang JWT, Loh TP, Koay ESC. Contamination-controlled high-throughput whole genome sequencing for influenza A viruses using the MiSeq sequencer. *Sci Rep.* 2016;6:33318. doi:10.1038/srep33318
2. Imai K, Tamura K, Tanigaki T, et al. Whole Genome Sequencing of Influenza A and B Viruses With the MinION Sequencer in the Clinical Setting: A Pilot Study. *Front Microbiol.* 2018;9:2748. doi:10.3389/fmicb.2018.02748
3. Zhou B, Wentworth DE. Influenza A virus molecular virology techniques. *Methods Mol Biol.* 2012;865:175-192. doi:10.1007/978-1-61779-621-0_11
4. Zhou B, Lin X, Wang W, et al. Universal influenza B virus genomic amplification facilitates sequencing, diagnostics, and reverse genetics. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1330-1337. doi:10.1128/JCM.03265-13
5. Protocols.io. A sequencing and subtyping protocol for influenza A and B viruses using Illumina COVIDSeq Assay Kit. www.protocols.io/view/a-sequencing-and-subtyping-protocol-for-influenza-n2bvj8mrxgk5. Published March 28, 2023. Accessed June 21, 2023.

illumina®

무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. All rights reserved. 모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-KR-00205 KOR